

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Jelátviteli kapcsolatok feltárása
Caenorhabditis elegans-ban

Vellai Tibor

Eötvös Loránd Tudományegyetem
Genetikai Tanszék



Budapest

2010.

I. ELŐSZÓ

„ ... *C. elegans* preserves that wonderful feature ... that with a few toothpicks, some petri dishes and a microscope, you can open the door to all of biology.”

Sydney Brenner (1996)

[„ ... a *C. elegans* (mint genetikai és fejlődésbiológiai modell) megőrizte azt a csodálatos tulajdonságát ... , hogy néhány fogpiszkáló és műanyag petri lemez segítségével, valamint egy mikroszkóppal a biológia (szinte) bármely kérdésköre vizsgálható.”]

Milyen egyedfejlődési program mentén alakul ki egy soksejtű élőlény testének 3-dimenziós szerkezete? Hogyan képes viszonylag limitált számú (néhány tucat) konzervált jelátviteli rendszer – ezek a molekuláris gépezetek biztosítják a belső rendet a sejt-sejt kommunikáció és a genetikai szabályozás kaotikus kémiai világában – meglepően nagyszámú (akár több ezer féle) sejtípust meghatározni? Ezek a problémák a biológia kutatások legambiciózusabb aktuális kérdéskörei közé tartoznak, és minden bizonnyal az elkövetkező évtizedek kutatási trendjeit is meghatározzák. A felvetett kérdésekre, legalábbis részben, csak a jelátviteli rendszerek komplex működésének megértése után lehet érdemben válaszolni. Az egyedi jelátviteli pályák között ható interakciók feltárása tehát kiemelt jelentőségű kutatási program. Mindezek tükrében nem meglepő, hogy gyakran ma már nem egyedi jelátviteli utakat, hanem jelátviteli hálózatokat vizsgálnak egy adott fejlődésbiológiai vagy sejtani folyamat tanulmányozása során. A témakör vizsgálatába közel tíz éve, a Ph.D. fokozat megszerzését követően vágtam bele. Ezen idő alatt sikerült kiépíteni egy *Caenorhabditis elegans* fonalféreg modellrendszerre épülő fejlődésgenetikai laboratóriumot az ELTE Genetikai Tanszékén, amely a nemzetközi *C. elegans* kutatóközösség (*C. elegans Research Community*) regisztrált tagjává vált.

Az MTA doktori fokozat elnyerése céljából írt értekezésemben a *C. elegans*-on végzett kutatásaim egy koherens részét, a jelátviteli kapcsolatok feltárására vonatkozó eredményeket foglalom össze. A vizsgált paradigmák – érthető okok miatt – széles spektrumot fednek le. Egyrészt ennek a mikroszkopikus méretű soksejtű élőlénynek a vizsgálatában kivételes multidiszciplináris lehetőségek rejlenek (erre utal a *C. elegans* kutatásokat iniciáló Sydney Brenner fentebb olvasható idézete is). Másrészt a vizsgálataim

fókuszában álló jelátviteli útvonalak sokféle egyedfejlődési folyamatot és sejtes funkciót szabályoznak. Mindezek eredőjeként olvashatunk az értekezésben sejtnövekedésről, sejtfüzióról, sejtpusztulásról, sejtsors meghatározásról, mintázatképződésről, jelátviteli integrációról, dóziskompenzációról és öregedésről. Az alaptéma azonban mindvégig közös marad: jelátviteli tengelyek közötti szabályozó kapcsolatok (*signalling crosstalk*) vizsgálata és meghatározása.

II. BEVEZETÉS

Mi mondja meg az egyedfejlődés során a sejteknek, hogy mikor osztódjanak és meddig éljenek? Hogyan tudják az újonnan keletkező sejtek, hogy egy adott pillanatban a test egy meghatározott pontján milyen sejttypussá kell differenciálódniuk? Milyen molekuláris mechanizmusok biztosítják a sejtek homeosztázisát (stabil működését) az állandóan változó körülmények között? E mechanizmusok hibás működése hogyan vezet patológiás folyamatokhoz? A felvetett problémák biológiai megismerésünk frontvonalába tartoznak, orvosbiológiai vonatkozásuk jelentős. A fenti kérdésekre adandó válaszok, legalábbis részben, a differenciált génaktivitásban keresendők. Egy soksejtű organizmus sejtjei ugyanis azonos génkészlettel rendelkeznek, de sejttypustól és fiziológiai állapottól függően adott sejtek ebből a készletből csak bizonyos géneket működtetnek. A génexpresszió szabályozása tehát az egyedfejlődés egyik kulcsfontosságú molekuláris színtere. Ha meg tudnánk határozni az egyedfejlődés során keletkező egyedi sejtekben, hogy mely gének és pontosan milyen mértékben fejeződnek ki, elviekben leírható lenne az egyedfejlődés genetikai programja. Ma még nem vagyunk erre technikailag képesek, és kétséges, hogy valaha egyáltalán képesek leszünk. Amit ma ismerünk azonban, az sem kevés: a génexpressziót specifikus transzkripciós faktorok szabályozzák, amelyek viszont meghatározott jelátviteli útvonalak hatására aktiválódnak.

A jelátviteli útvonalak központi szerepet játszanak az egyedfejlődés szabályozásában. Lehetővé teszik a sejtsors meghatározást, a szöveti mintázatképződést és a szervek, testtájak elrendeződését. A jelátviteli rendszereknek alapvető szerepük van továbbá a sejtek működésének szabályozásában. Aktivitásuk befolyásolja a makromolekulák *turnover*ét (pl. a fehérjék szintézisét és lebontását), és ezen keresztül a sejtek növekedését, osztódását és túlélését. A jelátviteli útvonalak abnormális működése emberben súlyos fejlődési rendellenességek, valamint számos patológiás elváltozás (pl. különböző ráktípusok,

neurodegeneratív folyamatok, intracelluláris patogének által okozott fertőzések, izomsorvadás, cukorbetegség, stb.) kialakulásával kapcsolható össze.

A jelátviteli rendszerek alapvetően egy adott biológiai információt processzálnak. Az üzenet (jel) továbbítása fehérjék aktiválásán (*on* állapot) vagy gátlásán (*off* állapot) keresztül valósul meg. A jelátvitel végső hatása gyakran differenciált génexpressziós változást eredményez. Ezért is nevezik a jelátviteli rendszereket, pontosabban a rendszerek komponenseit kódoló gének hierarchikus láncolatát, genetikai útvonalaknak. A jelátvitel (szignál transzdukció) biológiai jelentése: az információ anyagcseréje. Azt a molekuláris eseménysort jelenti, amely során a sejt érzékeli és processzálja a környezetből érkező információt.

Az értekezésben új jelátviteli kapcsolatok feltárására vonatkozó eredményeket mutatok be. Kísérleti objektumként a fonalféreg *Caenorhabditis elegans*-t, jelátviteli paradigmaként az autofágiát és a vulvaszövet fejlődését használtam. Az autofágia az eukarióta sejtek szabályozott önlebontó (katabolikus) folyamata. Egyedfejlődési, fiziológiai és orvosbiológiai jelentősége ellenére az autofágia mechanizmusáról és szabályozásáról soksejtű rendszerekben 2003-ig nem állt rendelkezésre irodalmi adat. Célul tűztük ki az autofágia mechanizmusának, szabályozásának és sejttani/egyedfejlődési funkcionak feltárását *C. elegans*-ban. Kiemelten vizsgáltuk az autofág degradációt befolyásoló jelátviteli folyamatokat. A *C. elegans* vulvaszövetének kifejlődése kiváló kísérletes paradigma a jelátviteli útvonalak koordinált működésének tanulmányozásához. Az eddig megismert vulva fejlődést szabályozó útvonalak a *lin-39 Hox* gén transzkripcióját befolyásolják. Vizsgálatainkban új *lin-39* expressziót szabályozó, és új LIN-39 által szabályozott jelátviteli kaszkádokat kerestünk.

III. CÉLKITŰZÉSEK

III.1. A *C. elegans* TOR kináz: jelátviteli kapcsolatok és funkciók

Az autofágiára vonatkozó kutatásaink kezdetén (2001-től kezdődően) olyan *C. elegans* rendszert kívántunk előállítani és jellemezni, amelyben az autofágia folyamata hiperaktiválódik (az autofágia működésének megértése céljából célszerűbbnek tűnt autofág struktúrák jelenlétét, mintsem azok hiányát vizsgálni). A TOR kináizról ekkor ismert volt, hogy élesztőben potensen gátolja az autofágiát. Kézenfekvőnek tűnt tehát a TOR-t genetikai

eszközökkel (mutációkkal és géncsendesítéssel) inaktiválni *C. elegans*-ban. TOR deficiens nematodák létrehozása után a következő kérdéseket fogalmaztuk meg:

- van-e szerepe a TOR kináznak az autofágia szabályozásában *C. elegans*-ban?
- van-e hatása a TOR kináz blokkolásának (autofágia hiperaktiválásának) a *C. elegans* egyedfejlődésére?
- befolyásolja-e a TOR – mint a sejtek energia szenzora – az állat öregedési folyamatát?
- ha igen, akkor milyen élethossz-szabályozó genetikai útvonalakkal hat kölcsön?

III.2. Autofág gének és fehérjék *C. elegans*-ban

A TOR kinázzal végzett kísérletekkel párhuzamosan feltettük azt a direkt kérdést is, hogy vannak-e autofág gének a *C. elegans* genomban; ismert élesztő autofág gének (ATG) főleg ortológiaiit kívántuk bioinformatikai módszerekkel meghatározni. Izgalmas probléma volt annak megvizsgálása, hogy vajon minden ismert élesztő autofág génnek megtaláljuk-e a fereg ortológját, vagy vannak élesztő-specifikus autofág faktorok. Más szavakkal, *C. elegans*-ban az élesztőben feltárt mechanizmushoz hasonlóan zajlik az autofágia folyamata vagy vannak alapvető molekuláris különbségek a két rendszer között? Néhány *C. elegans* ATG gén meghatározása után célszerű volt megvizsgálni a gének expressziós mintázatát. Szerettük volna tudni, hogy a *C. elegans* autofág fehérjék intracelluláris lokalizációja hasonlít-e az élesztő ortológok mintázatához (citoplazmatikus, membránstruktúrákhoz kapcsolt). Lizoszómás markerek használatával terveztük megvizsgálni, hogy az autofág fehérjék mutatnak-e lizoszómás lokalizációt. Ugyancsak fontos volt annak a kérdésnek a tisztázása, hogy az autofág gének mikor (mely stádiumokban) és hol (milyen sejtekben) fejeződnek ki az egyedfejlődés során.

III.3. *C. elegans* autofág gének funkciói

C. elegans autofág gének meghatározása után a géneket mutáns allélek izolálásával és géncsendesítéssel kívántuk inaktiválni. A továbbiakban az autofágia defektív, pontosabban autofág gén deficiens törzsek genetikai (funkcionális) jellemzését szándékoztuk elvégezni. Vizsgálni kívántuk a törzsek életképességét, fertilitását, növekedési ütemét, élettartamát, morfológiáját (pl. az állatok méretét), egyedfejlődését és viselkedését. Érdekes kérdés volt a vizsgált állatok sejtleszármazásának meghatározása. Adott sejtteni és egyedfejlődési funkciók meghatározása után olyan útvonalakat kerestünk, amelyek az autofág gének aktivitásán keresztül szabályozzák a kérdéses biológiai folyamatot. Autofág géneket szabályozó jelátviteli rendszereket kívántunk tehát feltárni.

III.4. A *C. elegans* vulvaszövet kifejlődését szabályozó jelátviteli rendszerek integrációja

A *lin-39 Hox* gén központi szerepet játszik a vulvaszövet kifejlődésében: a gén szabályozó régiója integrálja a vulva fejlődést szabályozó útvonalak jeleit. A LIN-39 – mint transzkripciós faktor – konzervált DNS szekvenciát képes felismerni és megkötni. E szekvencia meghatározásával az alábbi kérdésekre kívántunk választ keresni:

- milyen célgéneket szabályoz a LIN-39, és mely célgének vesznek részt a vulva sejtsorsok specifikációjában?
- mely LIN-39 célgének tartoznak szignalizációs rendszerekbe?
- a LIN-39 ko-faktoraként prediktált CEH-20/Pbx/Exd fehérje szerepet játszik-e a vulva fejlődés szabályozásában?
- *ceh-20* hipomorf mutációk hogyan befolyásolják a vulva mintázatképződését?
- Hat-e más jelátvitel a *lin-39* VPC-specifikus expressziójára?

A vulva egy ivarspecifikus szerv, hímegekben nem fejlődik ki. Ennek a szex-specifikus egyedfejlődési aspektusnak a genetikai háttere mai napig nem tisztázott. A nemi különbségek *C. elegans*-ban alapvetően a szex-determinációs génkaszád szabályozása alatt állnak. Ez az összefüggés vezetett minket annak a kérdésnek a felvetéséhez, hogy a TRA-1A transzkripciós faktor (a szex-determinációs útvonal terminális faktora) befolyásolja-e, és ha igen, hogyan, a *lin-39* aktivitását a vulva prekursor sejtekben. *tra-1* funkcióvesztéses mutációk mutatnak-e vulva fejlődési defektusokat?

III.5. A TRA-1/GLI transzkripciós faktor célgénjei

A TRA-1A transzkripciós faktor konzervált kötőhelyének meghatározása után a célgéneket genom szinten kívántuk feltárni. A potenciális célgének bioinformatikai meghatározása után néhány „izgalmas” jelátviteli találatot kísérletesen is meg kívántunk vizsgálni. Ezek egyike a már említett *lin-39* volt. A másik találat, amellyel részletesen kívántunk foglalkozni a *xol-1* „mester kapcsoló” gén volt. A *xol-1* működésének tisztázása érdekében megvizsgáltuk, hogy milyen módon szabályozza a TRA-1A a *xol-1* aktivitását, és milyen hatása lehet ennek a jelátviteli kapcsolatnak az egyedfejlődés globális szabályozására.

IV. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

Autofágia vonatkozású eredmények tézispontjai:

- 1. A TOR („rapamycin kináz célpontja”) szabályozza az öregedési folyamatot *C. elegans*-ban.** A *C. elegans* genomban a *let-363* gén kódolja a sejtek energia állapotát érzékelő TOR kinázt. *let-363(-)* funkcióvesztéses mutációk megállítják az állat egyedfejlődését az L3 lárva stádiumban. Kimutattuk, hogy a TOR deficiens mutáns lárvák kétszer hosszabb ideig élnek, mint a vad típusú (teljes életsikluson keresztül fejlődő) állatok. *let-363*-specifikus géncsendesítés (RNS interferencia; RNSi) hasonló pleiotróp fenotípust (egyedfejlődés megállítása és megnyúlt élettartam) eredményezett. Az L4 lárva stádiumtól alkalmazott *let-363* géncsendesítés nem gátolta meg az állatok normális (reproduktív) fejlődését, de továbbra is jelentősen megnyújtotta az élettartamot. A TOR által közvetített jelátvitel tehát egy újonnan azonosított öregedési folyamatot szabályozó útvonal.
- 2. A TOR és az inzulin/IGF-1 (inzulin-szerű növekedési faktor-1) útvonal egy jelátviteli tengelyt alkotnak az öregedési folyamat szabályozásában.** Az inzulin/IGF-1 jelátviteli útvonal központi szerepet játszik a fonalféreg, rovarok és emlősök élettartamának szabályozásában. DAF-2/IGF-1 receptor deficiens fonalféreg élethossza közel duplája a vad típusú állatok élethosszának. A *let-363* gén csendesítése nem növelte tovább a *daf-2(-)* mutánsok hosszú élettartamát. A TOR és az inzulin/IGF-1 hormonális rendszer tehát egy jelátviteli tengely mentén szabályozza az öregedési folyamatot. Ezzel a megállapítással konzisztensen a *let-363(RNSi)* állatok egy része dauer lárvaként fejlődött. A dauer lárva egy alternatív egyedfejlődési forma, amelyet a vad típusban a kedvezőtlen környezeti tényezők (pl. táplálékhiány, nagy egyedsűrűség, magas hőmérséklet) indukálnak. Restriktív körülmények között a *daf-2(-)* mutánsok is dauer lárvaként fejlődnek. A dauer lárva egy nem öregedő fejlődési forma: a vad típusú állatok két hetes élettartamával szemben fél évig is életképes. A *daf-2(-)* mutáns állatok megnövekedett élettartama és dauer fejlődése a DAF-16/FoxO transzkripciós faktor aktivitásától függ: a *daf-16* mutációs inaktiválása szuppresszálja az élethossz növekedést és dauer fejlődést *daf-2(-)* mutánsokban. *daf-16(-)* mutációk azonban nem befolyásolták az *let-363(RNSi)* állatok élethosszát. A LET-363/TOR tehát a DAF-16-től *downstream* hat az inzulin/IGF-1 útvonalban: a DAF-16 feltehetően negatívan szabályozza a TOR-t. Ezzel az epiztatikus

relációval egybevégtően a *let-363* expressziós szintje jelentősen megemelkedett *daf-16(-)* mutáns genetikai háttérben.

- 3. *C. elegans* autofág gének meghatározása.** Bioinformatikai eszközökkel (BLAST szekvencia-hasonlósági kereséssel) autofág géneket azonosítottunk a *C. elegans* genomban. Ismert élesztő és humán ATG (autofágia-kapcsolt) gének féreg ortológjait határoztuk meg. Néhány élesztő ATG gén esetében nem találtunk féreg ortológot, míg egy ATG gén esetében (*Atg8*) egynél több nematoda ortológot is meghatároztunk. Az ATG gének többsége azonban evolúciósan konzervált formában, vagyis egy-egy jól definiált ortológ által reprezentálva található meg a féreg genomban. Ez azt sugallja, hogy az autofágia mechanizmusa *C. elegans*-ban konzerváltan, az élesztőben megismert masinériához hasonlóan mehet végbe.
- 4. *C. elegans* autofág gének funkcionális (genetikai) jellemzése: mutáns allélek és géncsendesítés.** Számos *C. elegans* autofág gén esetében izoláltunk vagy szereztünk be funkcióvesztéses mutáns alléleket: *unc-51/ATG1*, *bec-1/ATG6*, *atg-7*, *lgg-1/ATG8* és *atg-18* gének mutáns alléljeit jellemeztük molekulárisan. Az *unc-51* kivételével mindegyik autofág gén mutációja teljes vagy részleges penetranciájú életképtelen fenotípust eredményezett. A mutáns állatok az embrionális vagy a korai lárvális fejlődés során pusztultak el. Az autofágia tehát esszenciális a *C. elegans* egyedfejlődéséhez. Alternatív magyarázatként az autofág gének autofágia független funkciója szükséges az életképességhez. A *bec-1*, *atg-7* és *lgg-1* gének esetében RNSi konstrukciókat is létrehoztunk. Mindhárom konstrukció funkcionálisnak bizonyult (megszüntette a megfelelő autofág gén *gfp*-vel jelölt fluoreszcens világítását). Ezen autofág gének csendesítése alacsony penetranciájú életképtelen fenotípust eredményezett.
- 5. *C. elegans* autofág gének expressziós jellemzése.** Két autofág gén (*bec-1* és *lgg-1*) esetében hoztunk létre transzlációs fúziós *gfp*-jelölt riporter konstrukciókat. A *bec-1* esetében a C-terminálison, az *lgg-1* esetében az N-terminálison fuzionáltuk a *gfp* kódoló régiót (az *lgg-1* C-terminálisán található glicin funkcionális). Ezek a transzsgének menekítették az adott gének mutáns alléljai által okozott letális fenotípusokat. Instabil – extrakromoszómális – genomi szerkezetben kiváló genetikai mozaikként működtek. A *bec-1* és *lgg-1* expressziója azt mutatta, hogy ezek a gének az egyedfejlődés során minden sejtben aktívak. A legintenzívebb expressziót az embrionális fejlődési stádiumokban

detektáltuk. Lárvákban és felnőtt állatokban kitüntetően az intenzíven osztódó sejtekben láttunk erős GFP jelet. Intracellulárisan ezek az autofág fehérjék a citoplazmában és a magban egyaránt megtalálhatóak voltak. A citoplazmában pontszerű struktúrákhoz lokalizáltak. A korábbi feltételezések szerint ezek a struktúrák autofagoszómális képletek. Az LGG-1 esetében igazoltuk, hogy a korai lárvák laterális *seam* sejtjeiben a fehérje a Golgi rendszerhez is lokalizál. Ezért a pontszerű autofág fehérje-pozitív struktúrák nem tekinthetők egyértelműen autofág eredetű komponenseknek.

6. Az autofág gének szabályozzák az öregedési folyamatot *C. elegans*-ban. Az autofág gének mutációs inaktiválása és géncsendesítése megrövidült élethosszt eredményezett. A kísérletekben életképes *unc-51(-)* és *atg-18(-)* mutánsokat, *bec-1* genetikai mozaikokat, valamint *atg-7(RNSi)* és *lgg-1(RNSi)* állatokat vizsgáltunk. Mivel az élethossz megrövidülése nem szolgál evidenciaként a vizsgált gén öregedési funkciójára vonatkozóan, ezekben az állatokban meghatároztuk az öregedési pigment (lipofuscin) és a mozgási képesség életkor függvényében történő változását. Ismert ugyanis, hogy az öregedő fonalférgek progresszíven halmoznak fel lipofuscint (lizoszómális aktivitás végtermékei) sejtjeikben és mozgásuk az idő előrehaladtával fokozatosan paralizál. Eredményeink szerint az autofág gén deficiens állatok gyorsabban halmoznak fel lipofuscint és gyorsabban bénulnak le, mint a vad típusú állatok. Autofág génfunkciók hiánya tehát az öregedési folyamat befolyásolásán (gyorsításán) keresztül okozott rövidebb élettartamot.

7. Az öregedési folyamatot szabályozó genetikai útvonalak hatása az autofág géneken konvergálódik *C. elegans*-ban. Az utóbbi évtizedekben számos öregedési folyamatot szabályozó (gyorsító) jelátviteli rendszert határoztak meg. Ezek közé tartozik az inzulin/IGF-1 és TOR útvonalak (az utóbbi funkcióját magunk tártuk fel), a csökkent tápanyagfelvételt („kalorikus restriktiót”) közvetítő útvonal és a mitokondriális légzési lánc. E rendszerek valamelyikének működésében gátolt egyszeres mutáns állatok hosszú életidejűek. Autofág génfunkcióban deficiens egyszeres mutánsok – ahogy azt fentebb láttuk - rövidebb ideig élnek, mint a vad típus. Autofág géneket inaktiváltunk hosszú életidejű mutánsokban, és néztük a beavatkozás élettartamra kifejtett hatását. Minden kettős mutáns kombinációban az autofág mutánsok rövidebb élettartama volt episztatikus. Kivételt a *daf-2(-)* mutánsok jelentettek, amelyekben az autofág gének blokkolása csak részlegesen szuppresszálta a megnyúlt élettartamot; *daf-2(-); autofág gén(-)* kettős

mutánsok tehát hosszabb ideig éltek a vad típusnál, de rövidebb ideig éltek a *daf-2(-)* egyszeres mutánsoknál. Figyelemre méltó módon az autofág gének blokkolása nagyobb mértékben csökkentette az élettartamot *daf-2(-)* mutáns háttérben, mint vad háttérben. Ez újabb indikációt jelentett az autofág gének élettartam szabályozó szerepére vonatkozóan. Autofág gének inaktiválása rövid élettartamot eredményezett TOR, kalorikusan „restriktált” és mitokondriális légzésben csökkent mutáns állatokban. Az autofág gének tehát egy útvonalban hatnak a TOR kinázzal, az tápanyag jelátviteli komponensekkel és a mitokondriális respirációs lánc komponensekkel: epiztatikusan hatnak e komponensek felett, közvetítik azok hatását (pl. az autofág gének funkciója kell a TOR mutáns állatok megnyúlt élettartamának kifejeződéséhez). Ezen eredmények szerint a különböző élethossz szabályozó útvonalak hatása az autofág génkaszkádon konvergálódik. Az autofágia tehát az öregedési folyamat központi szabályozó mechanizmusa. E megállapítás egybevághat azokkal az utóbbi években tett megfigyelésekkel, miszerint az autofágia abnormális működése számos időskori degeneratív elváltozásban kimutatható.

- 8. Az *unc-51/Atg1* és *bec-1 /Atg6* *C. elegans* autofág gének szerepet játszanak a sejtnövekedés szabályozásában.** A TOR–inzulin/IGF-1 jelátvitel tengely tápanyag- és hormonfüggő módon szabályozza a sejtnövekedést és proliferációt. Amint azt az előző pontban láttuk, e tengely öregedési folyamatra gyakorolt hatását autofág gének közvetítik. Ezért két életképes autofág mutáns törzsben (*unc-51(-)* és *bec-1* mozaikok) megvizsgáltuk az állatok testméretét (a *C. elegans* szomatikus sejtek száma invariáns, tehát az állat testmérete a sejtek méretének függvénye). A mutáns állatok testmérete a normálisnál rövidebb (kisebb) volt. Szövet-specifikus markerek alkalmazásával megállapítottuk, hogy a sejtszám nem változott meg a mutáns állatokban. Néhány egyedei sejt térfogatát is megmértük, és megint kisebb értékeket kaptunk, mint a vad típusban. *C. elegans*-ban a normális sejt méret kialakításához tehát autofág gének funkciójára van szükség.
- 9. Az *unc-51* és *bec-1* autofág gének az inzulin/IGF-1 és TGF- β útvonalakkal kölcsönhatva (azok *downstream* részeként) szabályozzák a sejtnövekedést.** A testméret (és sejt méret) szabályozásában az inzulin/IGF-1 és TGF- β útvonalak központi szerepet játszanak a különböző állati taxonokban. *C. elegans*-ban számos olyan inzulin/IGF-1 és TGF- β útvonal defektív mutáns ismert, amelyek hosszú testmérettel jellemezhetőek. Ezekben a megnyúlt testméretű mutánsokban autofág géneket inaktiváltunk: a kettős mutánsok minden esetben rövid testméretűek voltak. Az autofág

gének tehát közvetítik e jelátviteli útvonalak sejt növekedést szabályozó hatását. Más szavakkal megfogalmazva az inzulin/IGF-1 és TGF- β útvonalak az autofág génkaszkádon konvergálnak a sejt növekedés szabályozásában. Továbbá mindkét útvonal hat az egyedfejlődésre is: az útvonal deficiens egyszeres mutánsok dauer lárvaként fejlődnek. Az autofág gének blokkolása gátolta ezen útvonal deficiens állatokban a dauer lárvafejlődést.

10. Autofág gének szükségesek a neuronok pusztulásához excitotoxikus sejthalál paradigmában *C. elegans*-ban. A neurodegeneratív betegségeket az idegsejtek tömeges pusztulása jellemzi. *C. elegans*-ban bizonyos ioncsatorna alegységeket kódoló gének hiperaktív mutációja a mechanoreceptorok (6 darab van az állatban) programozott pusztulását eredményezi. Ezt a folyamatot hívják excitotoxikus sejthalálnak. A pusztuló neuronok jellegzetes vakuolarizációt és membrán betűródéseket tartalmaznak, amely autofág gének funkcióját vetette fel a folyamatban. Autofág géneket inaktiváltunk ilyen nekrotikus sejthalál paradigmákban (ioncsatorna hiperaktív mutánsokban) és azt tapasztaltuk, hogy sejtpusztulás mértéke csökkent. A nekrozis tehát egy aktív folyamat, autofág gének funkcióját igényli. Ezt a jelenséget megvizsgáltuk egy másik sejthalál paradigmában is. Az 6-hidroxidopamin (6-OHDA) neurotoxin specifikusan a dopaminerg neuronokat pusztítja el. Autofág gének inaktiválása gátolta a 6-OHDA okozta neuron pusztulást. Az alapvetően sejtvédő funkcióval rendelkező autofág géneknek tehát van – bizonyos körülmények között – sejtölő képességük is.

11. A *bec-1/Atg6 C. elegans* autofág gén genetikailag kölcsönhat (és fizikailag kötődik) a CED-9/Bcl-2 anti-apoptotikus fehérjével. *bec-1/ATG6(-)* mutáns törzseket izoláltunk. A mutáns állatok az embriógeneszis különböző stádiumaiban elpusztultak. A pusztuló embriókban nagymennyiségű apoptotikus testet azonosítottunk. *bec-1(RNSi)* felnőtt állatokban szintén nagyszámú csírasejt pusztult el apoptózissal. *bec-1* deficiens állatokban a megnövekedett apoptózis CED-3 kaspáz blokkolásával gátolható volt. A BEC-1 tehát a kanonikus apoptotikus útvonalban hat és apoptózist gátló (anti-apoptotikus) funkcióval bír. Ugyanilyen funkciója van a CED-9/Bcl-2 fehérjének is. Koimmunoprecipitációs kísérletekkel igazoltuk, hogy a BEC-1 kötődik a CED-9-hez. Az autofág és apoptotikus génkaszádok tehát genetikai interakciót mutatnak, a két útvonal közötti fizikai kapcsolatot a BEC-1/CED-9 komplex teremti meg.

Vulva fejlődéssel kapcsolatos eredmények tézispontjai:

- 12. A LIN-39 HOX fehérje (és a CEH-20/Exd HOX kofaktor) szabályozza a LIN-12/Notch receptort kódoló gén transzkripcióját a vulva fejlődés során.** A LIN-39 egy HOX fehérje (transzkripciós faktor), működését a CEH-20/Exd kofaktor teszi lehetővé. *lin-39* és *ceh-20* hipomorf mutánsok jellegzetes vulva fejlődési rendellenességeket mutattak. Jellemzően az ún. másodlagos (2°) vulva sejtsors nem differenciálódott ezekben az állatokban. A 2° sejtek differenciációja a LIN-12/Notch jelátvitel kontrollja alatt áll (*lin-12* kódolja a féreg Notch receptort). A fenotípussal egybevégezően a LIN-39 és CEH-20 fehérjék kimutathatóak voltak a 2° sejtekben a vulva indukció során. A *lin-39* és *ceh-20* gének aktivitásának csökkenése szuppresszálta a *lin-12* funkcionyeréses mutánsok sokvulvas fenotípusát (minden vulva elősejtben 2° sejtsors alakul ki). Ezzel konzisztensen a *lin-39* és *ceh-20* mutánsokban nagymértékben redukálódott a *lin-12* gén expressziója. Bioinformatikai eszközökkel konzervált LIN-39 kötőhelyet azonosítottunk a *lin-12* promóterben és kromatin-immunoprecipitációs kísérlettel igazoltuk, hogy a LIN-39 kötődik a *lin-12* szabályozó régióhoz *in vivo*. A vulva fejlődést szabályozó LIN-12/Notch jelátvitelt tehát a LIN-39/CEH-20 komplex aktiválja a vulva indukció során. Mivel a *lin-39* integrálja a vulva fejlődést indukáló Ras jelátvitel hatását, ez a *Hox* gén kapcsolja össze a Notch és Ras útvonalakat.
- 13. A LIN-39 HOX fehérje (és a CEH-20/Exd HOX kofaktor) szabályozza a LAG-2/Delta/Serrate Notch ligandumot kódoló gén transzkripcióját a vulva fejlődés során.** A LIN-12/Notch jelátvitel Delta/Serrate-szerű ligandumát a *lag-2* gén kódolja. BLAST elemzéssel a *lag-2* promóterben is találtunk konzervált LIN-39 kötőhelyet. Ezzel összhangban a *lag-2* vulvaszövet-specifikus expresszióját a *lin-39* és *ceh-20* hipomorf mutációk eliminálták, valamint a LIN-39 képes volt kötödni a *lag-2* promóterhez *in vivo*. A Notch jelátvitel tehát *Hox*-függő módon szabályozódik a vulva fejlődése során.
- 14. A *C. elegans* szex-determinációs génkaszkád szabályozza a vulvaszövet mintázatképződését.** A *C. elegans* vulva egy ivar-specifikus szerv: csak a hermafrodita állatokban fejlődik ki (a *C. elegans* populációkat két nem alkotja: az állatok önmegtermékenyítő hermafroditák vagy hímek). A szomatikus nemi különbségek kialakítását a szex-determinációs génkaszkád működése teremti meg. Az útvonal terminális transzkripciós faktora a TRA-1A fehérje, amely a humán Glioma-kapcsolt fehérjék és a *Drosophila* Cubitus interruptus féreg ortológja. *tra-1(-)* mutáns

hermafroditák jellegzetes vulva fejlődési defektusokat mutattak: ezekben az állatokban nem differenciálódtak 2° sejtek. Néhány mutáns egyedben több vulva fejlődött. Ezekkel a mutáns fenotípusokkal összhangban a *tra-1* expresszáldott a 2° vulva sejtekben és a hipodermisben (a hipodermisből erednek a vulva fejlődést gátló synMuv – szintetikus sokvulva – útvonalak). A *tra-1* gátlása növelte, hiperaktiválása csökkentette a vulva indukciót *lin-12* funkciónyeréses mutánsokban. A szex-determinációs génkaszkád tehát egy újonnan azonosított vulva fejlődést szabályozó útvonal.

15. A *C. elegans* szex-determinációs génkaszkád terminális transzkripció faktor (TRA-1A) közvetlenül szabályozza a *lin-39/Hox* expresszióját a vulva fejlődés során. A 2° vulva sejtorsót a LIN-12/Notch útvonal, annak aktivitását pedig a *lin-39 Hox* gén szabályozza. TRA-1A konszenzus kötőszekvenciát határoztuk meg és találtunk a *lin-39* szabályozó régióban. A TRA-1A kötődött a *lin-39* promóterhez *in vitro*, és befolyásolta a *lin-39* vulva-specifikus expresszióját. A szex-determinációs génkaszkád tehát a *lin-39* represszállásán keresztül szabályozza a vulva sejtek differenciálódását.

16. A *tra-1* egy synMuv B gén. A *lin-39* aktivitását a synMuv útvonalak gátolják a vulva fejlődés során. A synMuv rendszer valójában három parallel redundánsan működő útvonalból áll: a synMuv A, B és C útvonalakból. Az egyszeres synMuv útvonal mutánsok vad fenotípusúak, míg bármelyik két synMuv útvonal egyidejű kiütése többvulvás fenotípust eredményez (a synMuv rendszer a Ras induktív jellel antagonizál, a rendszer hiánya vulva hiperindukcióhoz vezet). A synMuv B útvonal kromatin szabályozó faktorokat tartalmaz, mint amilyen például a Retinoblasztóma (Rb) fehérje. *tra-1(-)* mutációk többvulvás fenotípust eredményeztek *synMuv A* és *synMuv C* mutáns háttérben, míg nem okoztak változást *synMuv B* mutáns háttérben. A *tra-1* tehát egy *synMuv B* gén. Blokkoltuk a *tra-1* funkcióját *synMuv AB* kettős mutánsokban is. A hármas mutánsok átlagos vulva száma mindig nagyobb volt, mint a megfelelő syMuv AB kettős mutánsoké.

17. A *tra-1* szabályozza a sejtfúziót *C. elegans*-ban. Ahogy azt a 15. pontban bemutattam, a TRA-1A transzkripcionálisan represszállja a *lin-39*-et. A *lin-39* gén részt vesz a ventrális P(1-11).p blaszt sejtek sejtfúziós folyamatában, pontosabban annak gátlásában. Vad típusú állatban csak a P(3-8).p sejtek nem fuzionálnak, a többi Pn.p sejt beolvad a hipodermisbe. *lin-39(-)* mutánsokban az összes Pn.p sejt fuzionál a hipodermisszel, ezért

ezekben az állatokban nem tud vulva indukálódni (vulva-hiányos fenotípus). Ez felvetette a TRA-1A potenciális szerepét a sejtfúzió szabályozásában. Valóban, *tra-1(-)* mutánsokban a Pn.p sejtek többsége nem fuzionál a hipodermisszel. Egy másik sejtfúziós paradigma a laterális *seam* sejtek fúziója. *tra-1(-)* mutánsokban a *seam* sejtek nem fuzionálnak egymással és ezért nem tudják kialakítani a hipodermisz jellegzetes kitüremkedéseit, az ún. *alae*-kat. Összefoglalva, a *tra-1* elősegíti a sejtfúziós folyamatokat. Ez a Gli fehérjecsald egy új sejtani funkciója.

18. A TRA-1A represszálja a *xol-1* „mester” szex-kapcsoló gén expresszióját. A *C. elegans* szex-determinációs és dóziskompensációs kaszkád két fő szegmensre osztható: *upstream* része egyszerre szabályozza – összehangolja – dóziskompensációs és szex-determinációs folyamatokat, *downstream* része viszont csak a szex-determinációra hat. Az *upstream* rész működését a *xol-1* „mester” kapcsoló gén aktivitása befolyásolja, míg a *downstream* rész terminális transzkripciós faktora a TRA-1A. Bioinformatikai analízissel TRA-1A konszenzus kötőhelyet találtunk a *xol-1* promóterben, és ez konzervált módon megtalálható volt közel rokon *Caenorhabditis* fajok *xol-1* genomi környezetében is. A teljes hosszúságú TRA-1A fehérje szekvencia-specifikusan kötődött a *xol-1* promóterhez *in vitro*, és gátolta a *xol-1* expresszióját *in vivo*. Egy TRA-1A kötőhelyben mutáns *xol-1::gfp* riportter ektopikusan expresszáldott hermafroditákban (a *xol-1* normálisan hímeiben aktív, hermafroditákban inaktív). *xol-1* hiperaktivitásból származó embrió letalítás *tra-1(-)* mutációkkal fokozni, *tra-1* funkciónyeréses mutációkkal csökkenteni tudtuk. A TRA-1A tehát represszálja a *xol-1*-et, ezáltal aktiválja a dóziskompensációs masinériát.

V. ÖSSZEFOGLALÁS

Az MTA doktori fokozat elnyerésére beadott pályázatomban új jelátviteli kapcsolatok feltárására vonatkozó eredményeinket foglaltam össze. Modell objektumként a fonalféreg *Caenorhabditis elegans*-t, kísérletes paradigmaként az autofágiát (az eukarióta sejtek szabályozott önlebontó folyamata) és a vulvaszövet fejlődését használtuk. Kimutattuk, hogy az autofágiát gátló TOR (*target of rapamycin*) kináz, amely tápanyag- és hormonfüggő módon szabályozza a sejtnövekedést és proliferációt, szerepet játszik az öregedési folyamat szabályozásában. A felfedezés idején ez egy újonnan feltárt TOR funkció volt. Jelenleg a

TOR az egyetlen olyan ismert fehérje, amelynek élettartam szabályozó szerepét mind a négy leggyakrabban használt öregedési modellben – élesztő, *C. elegans*, *Drosophila* és egér – bizonyították. Igazoltuk, hogy a TOR és az inzulin/IGF-1 neuroendokrin rendszer egy jelátviteli tengelyt alkotnak az élethossz meghatározásában.

Adataink alapján a TOR és inzulin/IGF-1 útvonal deficiens állatok élettartam növekedése autofág gének aktivitását igényelte: e jelátviteli pályák hatása tehát az autofág géneken konvergálódik. Autofág gének közvetítették továbbá más élethossz szabályozó útvonalak (a kalorikus restrikiót közvetítő jelátvitel és a mitokondriális légzési lánc) hatásait is. Az autofágia tehát az öregedési folyamat központi szabályozó mechanizmusa; esszenciális szerepet játszik a károsodott, előregedett és felesleges sejtalkotók eltávolításában, a sejt anyagainak megújításában.

Az autofág gének élettartam szabályozó szerepével összhangban megállapítottuk, hogy ezek a faktorok részt vesznek a sejtnövekedés kontrolljában is. Ezt a funkciót az inzulin/IGF-1 és TGF- β útvonalakkal kölcsönhatásban fejtik ki. Evidenciát szolgáltatunk továbbá arra vonatkozóan, hogy az autofág gének kölcsönhatnak a nekrotikus és apoptotikus folyamatokkal sejtpusztulási paradigmákban. Kísérleteinkben a BEC-1 autofág fehérje komplexet alkotott az anti-apoptotikus CED-9/Bcl-2 fehérjével. A különböző sejthalál útvonalak tehát az autofág fehérjerendszeren keresztül kommunikálnak egymással.

Végül rávilágítottunk arra, hogy a vulvafejlődés központi szabályozó faktora, a LIN-39 HOX fehérje közvetlenül aktiválja a Notch receptort (LIN-12) és ligandumát (LAG-2) kódoló gének transzkripcióját. Feltártunk egy új vulvafejlődést szabályozó útvonalat, a szex-determinációs kaszkádot, amelynek terminális transzkripció faktor (a Glioma-kapcsolt tumorszuppresszor fehérjecsaldába tartozó TRA-1A) a *lin-39* gén expresszióját gátolja. Kimutattuk továbbá, hogy a TRA-1A közvetlenül represszálja a szexuális fejlődés „mester” kapcsolójaként ismert *xol-1* gén aktivitását. A TRA-1A az elsőként meghatározott autoszómás *xol-1* represszor. E jelátviteli kapcsolat kialakulásakor a *xol-1*-et szabályozó kromoszóma-számláló mechanizmus átvált génszabályozó mechanizmusra.

VI. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

VI.1. A doktori értekezésben tárgyalt közlemények listája:

(IF: impakt faktor)

1. **Vellai T**, Takács-Vellai K, Zhang Y, Kovács AL, Orosz L, Müller F (2003). Influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*. *Nature* 426 (6967): 620 (IF: 30,979).
2. Kovács AL, **Vellai T**, Müller F (2004). Autophagy in *Caenorhabditis elegans*. In: *Autophagy*, ed. Daniel J. Klionsky, Landes Bioscience, Georgetown, Texas, USA, pp. 219-225.
3. Takács-Vellai K, **Vellai T**, Puoti A, Passannante M, Wicky C, Streit A, Kovács AL, Müller F (2005). Inactivation of the autophagy gene *bec-1* triggers apoptotic cell death in *C. elegans*. *Curr. Biol.* 15 (16): 1513-1517 (IF: 11,732).
4. **Vellai T**, McCulloch D, Gems D, Kovács AL (2006). Effects of sex and insulin/IGF-1 signaling on performance in an associative learning paradigm in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 174 (1): 309-316 (IF: 4,242).
5. Takács-Vellai K, Bayci A, **Vellai T** (2006). Autophagy in neuronal cell loss: a road to death. *BioEssays* 28 (11): 1126-1131 (IF: 5,965).
6. Takács-Vellai K, **Vellai T***, Chen EB, Zhang Y, Guerry F, Stern MJ, Müller F (2007). Transcriptional control of Notch signaling by a HOX and a PBX/EXD protein during vulval development in *C. elegans*. *Dev. Biol.* 302 (2): 661-669 (IF: 4,714).
*Corresponding author.
7. Tóth ML, Simon P, Kovács AL, **Vellai T** (2007). Influence of autophagy genes on ion channel-dependent neuronal degeneration in *Caenorhabditis elegans*. *J. Cell. Sci.* 120 (6): 1134-1141 (IF: 6,383).
8. **Vellai T**, Tóth ML, Kovács AL (2007). Janus-faced autophagy. A dual role of cellular self-eating in neurodegeneration? *Autophagy* 3 (5): 461-463 (IF: 4,657).
9. Aladzcity I, Tóth ML, Sigmond T, Szabó E, Bicsák B, Barna J, Regős Á, Orosz L, Kovács AL, **Vellai T** (2007). Autophagy genes *unc-51* and *bec-1* are required for normal cell size in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 177 (1): 655-660 (IF: 4,001).
10. Klionsky DJ, Abeliovich H, Agostinis P, Agrawal DK, ..., **Vellai T**, ..., Russell DL (2008). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes. *Autophagy* 4 (2): 151-175 (IF: 5,479).
11. Tóth ML, Sigmond T, Borsos É, Barna J, Erdélyi P, Takács-Vellai K, Orosz L, Kovács AL, Csikós G, Sass M, **Vellai T** (2008). Longevity pathways converge on autophagy genes to regulate life span in *Caenorhabditis elegans*. *Autophagy* 4 (3): 330-338 (IF: 5,479).

12. **Vellai T**, Bicsák B, Tóth ML, Takács-Vellai K, Kovács AL (2008). Regulation of cell growth by autophagy. *Autophagy* 4 (4): 507-509 (IF: 5,479).
13. Sigmond T, Barna J, Tóth ML, Takács-Vellai K, Pásti G, Kovács AL, **Vellai T** (2008). Autophagy in *Caenorhabditis elegans*. *Method. Enzymol.* 451: 521-540 (IF: 2,312).
14. Sigmond T, Fehér J, Baksa A, Pásti G, Pálfia Z, Takács-Vellai K, Kovács J, **Vellai T**, Kovács AL (2008). Qualitative and quantitative characterization of autophagy in *Caenorhabditis elegans* by electron microscopy. *Method. Enzymol.* 451: 467-491 (IF: 2,312).
15. **Vellai T** (2009). Autophagy genes and ageing. *Cell Death Differ.* 16 (1): 94-102 (IF:7,548).
16. Szabó E, Hargitai B, Regős Á, Tihanyi B, Barna J, Borsos É, Takács-Vellai K, **Vellai T** (2009). TRA-1/GLI controls the expression of the *Hox* gene *lin-39* during *C. elegans* vulval development. *Dev. Biol.* 330 (2): 339-348 (IF: 4,416).
17. **Vellai T**, Takács-Vellai K, Sass M, Klionsky DJ (2009). The regulation of aging – does autophagy underlie longevity? *Trends Cell Biol.* 19 (10): 487-494 (IF: 13,385).
18. Hargitai B, Kutnyánszky V, Blauwkamp TA, Steták A, Csankovszki G, Takács-Vellai K, **Vellai T** (2009). *xol-1*, the master sex switch gene in *C. elegans*, is a transcriptional target of the terminal sex-determining factor TRA-1/GLI. *Development* 136 (23): 3881-3887 (IF: 6,812).
19. **Vellai T**, Takács-Vellai K (2009). Regulation of protein turnover by longevity pathways. In: *Protein synthesis and aging*, ed. Nektarios Tavernarakis, Landes Bioscience, Georgetown, Texas, USA, *in press*.

Az értekezésben tárgyalt közlemények száma: 19 (ezekben első és utolsó szerző: 15)¹

Az értekezésben tárgyalt közlemények összesített impakt faktora: 125,895

Az értekezésben tárgyalt első és utolsó szerzős közlemények összesített impakt faktora: 106,372

VI.2. Egyéb közlemények (megjelenés sorrendjében):

1. **Vellai T**, Takács K, Vida G (1998). A new aspect to the origin and evolution of eukaryotes. *J. Mol. Evol.* 46 (5): 499-507 (IF: 3,271).
2. Triga D, Pamjav H, **Vellai T**, Fodor A, Buzás Z (1999). Gel electrophoretic restriction fragment length polymorphism analysis of DNA derived from individual nematodes, using the PhastSystem. *Electrophoresis* 20 (6): 1274-1279 (IF: 3,447).

¹ A 6. számú közleménynek második, de *corresponding* szerzője vagyok.

3. Pamjav H, Triga D, Buzas Z, **Vellai T**, Lucskai A, Adams B, Reid AP, Burnell A, Griffin C, Glazer I, Klein MG, Fodor A (1999). Novel application of PhastSystem polyacrylamide gel electrophoresis using restriction fragment length polymorphism - internal transcribed spacer patterns of individuals for molecular identification of entomopathogenic nematodes. *Electrophoresis* 20 (6): 1266-1273 (IF: 3,447).
4. **Vellai T**, Vida G (1999). The origin of eukaryotes: the difference between prokaryotic and eukaryotic cells. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 266 (1428): 1571-1577 (IF: 2,755).
5. **Vellai T**, Kovács AL, Kovács G, Ortutay C, Vida G (1999). Genome economization and a new approach to the species concept in bacteria. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 266 (1432): 1953-1959 (IF: 2,755).
6. Ortutay C, Gáspári Z, Tóth G, Jáger E, Vida G, Orosz L, **Vellai T** (2003). Speciation in *Chlamydia*: Genomewide phylogenetic analyses identified a reliable set of acquired genes. *J. Mol. Evol.* 57 (6): 672-680 (IF: 3,114).
7. Menzel O*, **Vellai T***, Takács-Vellai K, Reymond A, Mueller F, Antonarakis SE, Guipponi M (2004). The *Caenorhabditis elegans* ortholog of *C21orf80*, a potential new protein O-fucosyltransferase, is required for normal development. *Genomics* 84 (2): 320-330 (IF: 3,84). *Contributed equally.
8. Szöllősi GJ, Derényi I, **Vellai T** (2006). The maintenance of sex in bacteria is ensured by its potential to reload genes. *Genetics* 174 (4): 2173-2180 (IF: 4,242).
9. Kovács AL, Pálfia Z, Réz G, **Vellai T**, Kovács J (2007). Sequestration revisited. Integrating traditional electron microscopy, de novo assembly and new results. *Autophagy* 3 (6): 655-662 (IF: 4,657).
10. Kassai-Jáger E, Ortutay C, Tóth G, **Vellai T**, Gáspári Z (2008). Distribution and evolution of short tandem repeats in closely related bacterial genomes. *Gene* 410 (1): 18-25 (IF: 2,578).
11. Borsy A, Podani J, Stéger V, Balla B, Kósa J, Gyurján I, Molnár A, Szabolcsi Z, Szabó L, Jáko E, Zomborszky Z, Nagy J, Semsey S, **Vellai T**, Lakatos P, Orosz L (2009). Identifying novel genes involved in both deer physiological and human pathological osteoporosis. *Mol. Genet. Genomics* 281 (3): 301-313 (IF: 2,838).
12. **Vellai T**, Klionsky DJ (2010). A second report from the EMBO conference on autophagy: mechanism, regulation and selectivity of autophagy. *Autophagy* 6 (1): 197-198 (IF: -).

Összes közlemények száma: 31

Összes közlemény összesített impakt faktora: 162,839

Összes hivatkozások száma: 845 (független: 648)

JEGYZETEK
